

ผลกระทบของกระบวนการทำให้แห้งแบบเยือกแข็งต่อคุณสมบัติรูปแบบของแข็ง
ของยาพราลิดอกซิม คลอไรด์

ร้อยเอกหญิง กัญชลา วิชัยชนะกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีเภสัชกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-3943-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EFFECT OF FREEZE DRYING PROCESS ON SOLID STATE PROPERTIES OF
PRALIDOXIME CHLORIDE**

Captain Kanchala Vichaichanakul

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmaceutical Technology**

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 974-17-3943-5

Copyright of Chulalongkorn University

กัญชลา วิชัยชนะกุล, ร้อยเอกหญิง: ผลกระทบของกระบวนการทำให้แห้งแบบเยือกแข็งต่อคุณสมบัติรูปแบบของแข็งของยา พราลิดอกซิม คลอไรด์ (Effect of freeze drying process on solid state properties of pralidoxime chloride) อ. ที่ปรึกษา : อ.ดร.นฤพร สุตันทวิบูลย์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร.สุชาติ จงประเสริฐ 88 หน้า. ISBN 974-17-3943-5.

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาทำความเข้าใจในเรื่องของพฤติกรรมสารที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำจากระบบพราลิดอกซิมคลอไรด์กับน้ำ รวมถึงการนำไปปรับใช้ในกระบวนการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของระบบใช้เทคนิคเอกซเรย์ พาวเดอร์ดิฟแฟรคโตเมทรี, เทคนิคสแกนนิ่งอิเล็กตรอนไมโครสโคป, เทคนิคดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง คาลอริเมทรี และเทคนิคอินฟราเรด สเปกโตรโฟโตเมทรี ศึกษาพฤติกรรมสารที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำของสารละลายพราลิดอกซิมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ในน้ำ โดยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง คาลอริเมทรี พบปรากฏการณ์การดูดพลังงาน 2 ปรากฏการณ์เกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ -12 และ -10.3 องศาเซลเซียส ก่อนปรากฏการณ์หลอมเหลวของน้ำแข็งเกิดขึ้น ปรากฏการณ์ทั้งสองแบบนี้แปรผลได้เป็นจุดหลอมเหลวเยือกแข็งของสาร สมมติฐานของการทดลองคือสหสัมพันธ์ 2 ชนิดที่แตกต่างกันอาจเกิดขึ้นระหว่างการแช่แข็ง การเปลี่ยนแปลงอัตราการเพิ่มและลดอุณหภูมิไม่สามารถเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมที่เกิดขึ้นได้ การศึกษาคุณสมบัติของปรากฏการณ์ดูดพลังงาน 2 แบบโดยใช้เทอร์มอลทรีทเมนต์หรือการหยุดอุณหภูมิต่ำระหว่างกระบวนการแช่แข็ง การหยุดอุณหภูมิต่ำที่กำหนดไว้ที่อุณหภูมิต่ำ -12, -15 และ -17 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงในสถานะที่แตกต่างกันระหว่างก่อนและหลังสารจะถูกแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำ -40 องศาเซลเซียส พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของพฤติกรรมสารที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำซึ่งบันทึกโดยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง คาลอริเมทรี ภายใต้สถานะของการหยุดอุณหภูมิต่ำ 2 สถานะ อาจเสนอได้ว่าระยะเวลาในการหยุดอุณหภูมิต่ำไม่เพียงพอที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสารละลายแช่แข็ง แม้ว่าการทดลองการทำให้แห้งแบบเยือกแข็งจะเกี่ยวเนื่องกันเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์จากการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง สถานะของการแช่แข็งได้เปลี่ยนแบบจากการทดลองในเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง คาลอริเมทรี ผลการทดลองแสดงว่าจุดหลอมเหลวของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสถานะของการหยุดอุณหภูมิต่ำหลังจากแช่แข็งที่ -40 องศาเซลเซียสมีค่ามากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสถานะของการหยุดอุณหภูมิต่ำก่อนแช่แข็งที่ -40 องศาเซลเซียส และมีความเป็นผลึกสูงกว่าในขณะที่การหยุดอุณหภูมิต่ำหลังแช่แข็งไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงและมีความเป็นผลึกต่ำกว่า สมมติฐานไม่สอดคล้องกับข้อมูลจากเทคนิคเอกซเรย์ พาวเดอร์ดิฟแฟรคโตเมทรี ซึ่งจากผลการทดลองสังเกตเห็นได้ว่าผงยาจากสถานะของการหยุดอุณหภูมิต่ำก่อนการแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำ -40 องศาเซลเซียส จะมีความเป็นผลึกสูงกว่า

หลักสูตรเทคโนโลยีสารสนเทศ
สาขาวิชา เทคโนโลยีสารสนเทศ
ปีการศึกษา 2546

ลายมือชื่อนิสิต..... K. Wichaiwanakul.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่..... M. Sutthavud.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... Suchat Jongsri.....

4376851733 : MAJOR PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY (INTERNATIONAL)

KEY WORD: PRALIDOXIME CHLORIDE / FREEZE DRYING / POLYMORPHISM / DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY / SOLID STATE PROPERTIES

KANCHALA VICHAICHANAKUL : EFFECT OF FREEZE DRYING PROCESS ON SOLID STATE PROPERTIES OF PRALIDOXIME CHLORIDE. THESIS ADVISOR: NARUEPORN SUTANTHAVIBUL, Ph.D., THESIS COADVISOR: SUCHART CHONGPRASERT, Ph.D., [88] pp. ISBN 974-17-3943-5.

The broad objective of this research was to better understand the low temperature thermal behavior of pralidoxime chloride-water system and its implication on the freeze drying process. X-ray powder diffractometry (XRPD), scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC) and infrared spectroscopy (IR) were used to characterize the physicochemical properties of the system. Low temperature thermal behavior of 5% pralidoxime chloride frozen solution was done using DSC. Two endothermic events were found at -12 and -10.3°C before the ice melting endotherm. Then two endotherms are interpreted as eutectic melting. The hypothesis is that two different polymorph might exists during freezing. Various heating and cooling rates apparently do not alter the observed behavior. Attempts have been put to further characterize the two endotherms using thermal treatment (annealing). Annealing was carried out at -12 , -15 and -17°C for 1 hour in separate experiments at either before or after the sample was cooled to a predetermined freezing temperature (-40°C). Apparently, there is no significant change of low temperature behavior as recorded by DSC under the two annealing conditions. It is then suggested that the annealing period was not sufficient to induce any a transformation in frozen solution. However, freeze drying experiment was conducted to see if there would be any observable changes in physicochemical properties of freeze dried product. The freezing conditions were simulated to those carried in the DSC experiment. The results show that the melting temperature of the freeze dried products obtained under different annealing condition was different. The one melting temperature of the product obtained under the condition where the solution was annealed after reaching -40°C is higher than that of the product when the condition were annealed before cooling down to -40°C . It indicated that annealing at temperature before the solution was frozen at -40°C would likely induce more ordered crystal structure, while annealing after the solution was frozen at -40°C would not cause any changes and deposit in a low ordered crystal structure. However, the hypothesis is not consistent with the XRPD data. A more crystalline powder was apparently observed in a product where the condition was annealed before cooled down to -40°C .

Department Pharmaceutical Technology
Field of study Pharmaceutical Technology
Academic year 2003

Student's signature.....*K. Vichaidramakul*
Advisor's signature.....*N. Sutanthavibul*
Co-advisor's signature.....*Suchart Chongprasert*

Acknowledgements

I would like to express my sincere gratitude and appreciation to my advisor, Dr. Narueporn Sutanthavibul, for her invaluable advice, guidance, and encouragement throughout this study. Her patience, kindness, and understanding are also deeply appreciated.

My special thanks are extended to Dr. Suchart Chongprasert, my co-advisor, for his kindness, helpfulness, and invaluable suggestions.

I likewise want to thank very much Associate Professor Dr. Ubonthip Nimmannit, chair man of the International project for her kindness and very helpfulness for this study.

The other special thank go to Mettler Toledo (Thailand) co. Ltd. for providing laboratory facilities of differential scanning calorimetry in this work.

I also would like to acknowledgement the members of my thesis committee, Associate Professor Poj Kulvanich, Associate Professor Ubonthip Nimmannit and Dr. Tunvichien, for their good suggestion and advices.

A special appreciation is given to my father for granting financial support to my study. My special thankfulness is also send to all my colleagues, friends and other persons whose names have not been mentioned for helping me and encouragement during the time of my study.

The important thank go to Col. Supattha Temboonkiat, my commander at Pharmacy Division, Phramonkutklao Hospital for understanding and supporting my study.

Finally it is my great wish to express my cordial and deep thanks to my parents for their continuous love, care and encouragement throughout my life.

CONTENTS

	Page
Abstract Thai	iv
AbstractEnglish	v
Acknowledgements	vi
List of Tables	viii
List of Figures	ix
List of Abbreviations	xii
Chapter	
I Introduction	1
II Literature Review	5
III Experimental	20
IV Results	26
V Discussion	65
VI Conclusion	73
References	75
Appendices	78
Vita	88

LIST OF TABLES

Table		Page
1	The variation of cooling and heating rate for DSC method	22
2	The figures of DSC thermogram at different cooling and heating rate.....	34

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	The structural formula of pralidoxime chloride	1
2	Diagram of vial during primary drying	6
3	Plot of process variable during freeze drying cycle	7
4	Phase diagram of water	8
5	Equilibrium phase diagram for NaCl and water	9
6	Microstructure for solute when freezing	10
7	Types of thermal transition relevant to frozen solution	15
8	A complex glass transition region of glycine solution	16
9	Photomicrograph of pralidoxime chloride starting material at different magnification	27
10	X-ray powder diffractogram of pralidoxime chloride starting material powder	28
11	DSC thermogram of pralidoxime chloride starting material powder	29
12	Infrared spectrum of pralidoxime chloride starting material powder	30
13	The standard infrared spectrum of pralidoxime chloride	31
14	DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution during heating cycle of 0.5 ^o C/min	32
15	DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution with the same heating rate of 1 ^o C/min and at various cooling rates	35
16	DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution with the same heating rate of 5 ^o C/min and at various cooling rates	36
17	DSC thermogram with the same heating rate of 10 ^o C/min and at various cooling rates	37
18	DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution with the same heating rate of 20 ^o C/min and at various cooling rates	38
19	DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution with the same cooling rate of 1 ^o C/min and at various heating rates	40
20	DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution with the same cooling rate of 5 ^o C/min and at various heating rates	41

LIST OF FIGURES

Figure (cont.)	Page
21 DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution with the same cooling rate of 10 ^o C/min and at various heating rates	42
22 DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution with the same cooling rate of 20 ^o C/min and at various heating rates	43
23 DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution: Annealing temperature at -12,-15 and -17 ^o C for 1 hr. before reaching the final freezing temperature.....	44
24 DSC thermogram of 5% pralidoxime chloride solution: Annealing temperature at -12,-15 and -17 ^o C for 1 hr. after reaching the final freezing temperature.....	45
25 The photograph of freeze dried pralidoxime chloride at annealing at -12,-15 and -17 ^o C before reaching the final freezing temperature	47
26 The photograph of freeze dried pralidoxime chloride at annealing at -12,-15 and -17 ^o C after reaching the final freezing temperature.....	48
27 X-ray diffractogram of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -12, -15 and -17 ^o C before reaching freezing temperature compare with pralidoxime chloride powder	50
28 X-ray diffractogram of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -12, -15 and -17 ^o C after reaching freezing temperature compare with pralidoxime chloride powder	51
29 Photomicrograph of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -12 ^o C before reaching the final freezing temperature.....	52
30 Photomicrograph of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -15 ^o C before reaching the final freezing temperature.....	53
31 Photomicrograph of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -17 ^o C before reaching the final freezing temperature.....	54
32 Photomicrograph of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -12 ^o C after reaching the final freezing temperature.....	55
33 Photomicrograph of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -15 ^o C after reaching the final freezing temperature.....	56

LIST OF FIGURES

Figure (cont.)	Page
34 Photomicrograph of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -17°C after reaching the final freezing temperature.....	57
35 DSC thermogram of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -12°C before reaching freezing temperature.....	58
36 DSC thermogram of freeze dried pralidoxime chloride annealed at -15°C before reaching freezing temperature.....	59
37 The photograph of freeze dried pralidoxime chloride in controlled condition (40°C , 0% Rh) for 1-5 days.....	60
38 The photograph of freeze dried pralidoxime chloride under humidity condition (40°C , 70% Rh) for 1-5 days.....	61
39 X-ray diffractogram of freeze dried pralidoxime chloride in controlled condition (40°C , 0% Rh) for 1-5 days.....	62
40 X-ray diffractogram of freeze dried pralidoxime chloride under humidity condition (40°C , 70% Rh) for 1-5 days.....	63
41 The manipulation of the thermal history of glycine at different annealing conditions (12).....	67
42 Phase transformation of freeze dried pralidoxime chloride at annealing after the predetermined freezing temperature condition.....	70
43 Diagram of the reactivation of alkylphosphorylated acetylcholinesterase(AChE).....	81

LIST OF ABBREVIATIONS

%	percentage
$^{\circ}2\theta$	Theta angle
$^{\circ}\text{C}$	degree celsius (centigrade)
μL	microliter(s)
2-PAM	pralidoxime chloride, 2pyridine aldoxime methochloride
AChE	acetylcholinesterase
cm^{-1}	1/cm
DSC	Differential Scanning Calorimetry
DTA	Differential Thermal Analysis
e.g.	example gratia, for example
et al.	et alli, and others
etc.	et cetera (and so on)
FTIR	Fourier transform infrared
gm	gram(s)
IM	intramuscular
IV	intravenous
KBr	potassium bromide
KCl	potassium chloride
M.W.	molecular weight
mg	milligram(s)
min	minute(s)
mL	milliliter(s)
mp	melting point
mTorr	milliTorr
NaCl	sodium chloride
pH	the negative logarithm of the hydrogen ion concentration
s	second
SEM	scanning electron microscopy

LIST OF ABBREVIATIONS (CONT.)

T _{cs}	complete solidification temperature
T _g	glass transition temperature
XRPD	x-ray powder diffractometry